

Desenvolvimento de metodologia analítica qualitativa para detecção de cocaína em larvas de *Lucilia eximia* (Wiedemann) (Diptera: Calliphoridae)

J.M. Mendes ^{a,*}, R.L. Lemes ^a, G.C. Parabocz ^b, A. Gaedke ^b, S. Pericolo ^b, T.L. Silva ^b,

S.A. Ramos ^c, R.C. Deglmann ^a

^a Universidade da Região de Joinville, UNIVILLE, Joinville (SC), Brasil

^b Polícia Científica, Joinville (SC), Brasil

^c Universidade do Vale do Itajaí, UNIVALI, Itajaí (SC), Brasil

*Endereço de e-mail para correspondência: jessi.mmendes@gmail.com. Tel.: +55-47-988496428.

Recebido em 23/11/2025; Revisado em 05/05/2026; Aceito em 20/06/2026

Resumo

A entomotoxicologia é uma vertente da entomologia forense utilizada em casos de cadáveres em avançado estado de decomposição, onde não existem mais matrizes biológicas a serem utilizadas para análise de drogas e outras substâncias químicas. Ao avaliar o gradual crescimento do uso de drogas ilícitas, tal como a cocaína, é necessário estabelecer metodologias viáveis para serem utilizadas na elucidação de casos prováveis de overdose. O objetivo deste estudo foi estabelecer protocolos de extração e detecção de cocaína em larvas de terceiro estágio de *Lucilia eximia* por cromatografia gasosa acoplada à espectrometria de massas (CG-EM). Para a determinação da metodologia, tornaram-se como base as referências científicas da área e o conhecimento da equipe da Polícia Científica de Joinville/SC. Realizou-se o preparo da dieta artificial e o cultivo artificial das larvas e, posteriormente, análises toxicológicas. A metodologia aplicada mostrou-se eficaz para a detecção de cocaína em diferentes amostras de larvas. Conclui-se que a utilização do intestino da larva apresentou melhores resultados para a detecção de cocaína quando comparada à utilização da larva inteira. Acrescenta-se ainda que se deve investir em pesquisas para o desenvolvimento de metodologias de análises entomotoxicológicas, bem como ampliá-las, visando auxiliar nas investigações da Polícia Científica de Santa Catarina.

Palavras-Chave: CG-EM; Cocaína; Entomotoxicologia; Larvas; Toxicologia Forense.

Abstract

Entomotoxicology is an aspect of forensic entomology that has been used in cases of corpses in an advanced state of decomposition, where there are no longer biological matrices to be used for analysis. When evaluating the gradual increase in the use of illicit drugs, such as cocaine, it is necessary to establish viable methodologies to be used to elucidate probable cases of overdose. The objective of this research was to establish protocols for the extraction and detection of cocaine in *Lucilia eximia* larvae by gas chromatography coupled to mass spectrometry (GC-MS). To determine the methodology, scientific references in the area and the knowledge of the Joinville Scientific Police Team were taken as a basis. The preparation of the artificial diet and the artificial cultivation of the larvae and subsequent toxicological analysis were carried out. The methodology applied proved to be effective for detecting cocaine in different samples of larvae. It is concluded that the use of the intestine of the larvae presented better results for the detection of cocaine when compared to the use of the entire larvae. It should also be added that investment and expansion should be made in research for the development of entomotoxicological analysis methodologies, aiming to assist in investigations by the Scientific Police of Santa Catarina.

Keywords: GC-MS; Cocaine; Entomotoxicology; Larvae; Forensic Toxicology.

1. INTRODUÇÃO

A entomologia forense constitui um campo das ciências forenses que aplica conhecimentos da biologia e da ecologia dos insetos e outros artrópodes na estimativa do intervalo *post mortem* (IPM), bem como em outras análises relacionadas à toxicologia e à química forense [1]. Como sub-área, destaca-se a entomotoxicologia, que estuda a utilização de insetos necrófagos em análises toxicológicas com o objetivo de identificar drogas e substâncias tóxicas presentes em tecidos biológicos [2].

Em situações de decomposição avançada, nas quais não há mais tecidos ou fluidos biológicos para análise convencional, os insetos associados à fauna cadavérica passam a constituir matrizes alternativas. A partir da ingestão de substâncias tóxicas presentes no substrato, esses organismos podem acumular compostos químicos, permitindo a identificação de agentes exógenos previamente presentes no organismo em vida. Nesse contexto a entomotoxicologia busca detectar, em insetos, a presença de drogas, fármacos, pesticidas e metais pesados, contribuindo para a elucidação do envolvimento dessas substâncias em casos forenses [3, 4].

No Brasil, o marco inicial da entomologia forense remonta a 1908, com estudos conduzidos por Oscar Freire, que apresentou à Sociedade Médica da Bahia a primeira coleção de insetos necrófagos, acompanhada de resultados obtidos em pesquisas com cadáveres humanos e de pequenos animais. O avanço da entomologia forense no Brasil tem sido favorecido pela sólida tradição científica no estudo de insetos das ordens Diptera e Coleoptera, frequentemente associados a casos de morte, além de outros grupos de menor ocorrência, porém relevantes [5].

A entomofauna de interesse toxicológico inclui principalmente besouros, moscas e suas larvas em diferentes estágios de desenvolvimento, abrangendo ovo, larva, pupa e adulto. Dentre as espécies de relevância forense no Brasil, destaca-se a *Chrysomya albiceps* (Diptera: Calliphoridae), amplamente investigada [6]. No estado de Santa Catarina, Brasil, particularmente na cidade de Florianópolis, a espécie *Lucilia eximia* (Diptera: Calliphoridae) apresenta elevada prevalência na fauna cadavérica, sendo considerada um importante indicador forense na região Sul do país [1]. Estudos conduzidos por Gaedke e Mouga [7], identificaram a predominância de *L. eximia* em cadáveres humanos na região norte do estado, especialmente durante as estações do verão e outono, na fase gasosa da decomposição, com predominância de larvas no terceiro ínstar.

A entomotoxicologia tem ganhado relevância crescente como alternativa metodológica em contextos nos quais as amostras toxicológicas convencionais se encontram degradadas ou indisponíveis. Os primeiros registros dessa abordagem datam da década de 1970, quando Sohal e Lamb [8] identificaram o acúmulo de diferentes metais como cobre, ferro, zinco e cálcio em tecidos de moscas domésticas adultas. Em 1980, um caso emblemático envolveu identificação de fenobarbital em larvas coletadas de um cadáver em estágio avançado de decomposição, no qual não havia mais tecidos ou fluidos disponíveis para análise [9].

Posteriormente, em 1982, foi detectada a presença de mercúrio em larvas de califorídeos (Diptera) que se alimentam de tecidos de peixes contaminados [10]. Outros estudos reforçam aplicabilidade dessa abordagem, como o trabalho de Nolte [11], que identificou cocaína e a benzoilecgonina por cromatografia gasosa acoplada à espectrometria de massas (CG-EM) em larvas do gênero *Calliphora* provenientes de um cadáver em avançado estado de decomposição. De forma complementar, Magni [12] validou uma metodologia por CG-EM para a detecção de nicotina em diferentes estágios de desenvolvimento de *Calliphora vomitoria* (Diptera: Calliphoridae), cultivadas em substratos contaminados com a substância química.

Apesar dos avanços, a entomotoxicologia enfrenta desafios analíticos significativos, especialmente relacionados à complexidade da matriz de análise e à padronização metodológica. Nesse contexto, o cultivo de larvas em dietas artificiais tem sido proposto como estratégia para aumentar a reprodutibilidade experimental. Protocolos descritos na literatura frequentemente utilizam vísceras de animais associadas a componentes como leite em pó, caseína, levedo de cerveja e ágar [13].

No atual cenário nacional, a cocaína exerce importante papel, sendo a segunda droga ilícita mais consumida no Brasil [14]. Dados do Escritório sobre Drogas e Crimes das Nações Unidas (UNODC), indicam que, em 2020, ocorreram 632 mortes associadas ao uso de drogas ilícitas no Brasil, das quais 283 relacionadas ao consumo de cocaína [15]. Dessa forma, essa substância configura-se como alvo prioritário em estudos de entomotoxicologia. Diversos autores investigaram os efeitos da cocaína no desenvolvimento de insetos necrófagos. Goff [16], que avaliou larvas alimentadas com tecidos de coelhos expostos a doses letais de cocaína, enquanto Carvalho [17], analisou o impacto da substância no desenvolvimento de larvas imaturas e adultos na estimativa do IPM.

Em revisão realizada por L.P.P. Pontes [18], os pesquisadores destacaram que, embora existam evidências de que as substâncias químicas influenciam o crescimento e a taxa de desenvolvimento larval, ainda há lacunas significativas na padronização de protocolos aplicáveis à perícia forense. Tais protocolos devem garantir resultados robustos, reprodutíveis e confiáveis, tanto para a estimativa do IPM, quanto para identificação das fases do desenvolvimento do inseto e quais tecidos mais adequados à detecção de substâncias, fortalecendo a confiabilidade das análises entomotoxicológicas.

Considerando ainda a limitada utilização de amostras entomológicas no contexto nacional, a ampla aplicação da cromatografia gasosa acoplada à espectrometria de massas em laboratórios forenses brasileiros, e a relevância da cocaína em casos de mortes violentas, o presente estudo tem como objetivo estabelecer protocolos de extração e detecção de cocaína em larvas de *L. eximia* por CG-EM.

2. MATERIAIS E MÉTODOS

O estudo foi desenvolvido nos laboratórios de Entomologia Forense e de Drogas Psicoativas da Superintendência Regional da Polícia Científica em Joinville – SC (PCISC). As análises foram realizadas pela equipe de perícia da PCISC, com acompanhamento de pesquisadores da Universidade da Região de Joinville (UNIVILLE).

2.1. Produtos químicos e reagentes

A detecção da cocaína foi realizada por cromatografia gasosa acoplada à espectrometria de massas (CG-EM), utilizando equipamento Agilent, modelo FC 7890^a MS 5975C. Os reagentes empregados incluíram etanol 70% (Jalles®, GO, Brasil), diclorometano e acetoneitrila (Vetec Química Fina®, RJ, Brasil) e metanol (Greentec Soluções e Reagentes®, SP, Brasil). Para o preparo da solução de hidróxido de sódio (NaOH) 1 M, utilizou-se hidróxido de sódio grau P.A. (Labsynth Produtos para Laboratórios®, SP, Brasil), dissolvido em água destilada.

A cocaína utilizada no estudo foi proveniente de amostras da PCISC, sem determinação prévia de pureza. Dessa forma, a concentração de cocaína adicionada ao meio de cultivo é aproximada, tendo em vista a presença frequente de adulterantes em amostras ilícitas, como cafeína, lidocaína, benzocaína e fenacetina [19].

2.2. Cultivo e preparo da dieta larval

A definição da concentração de cocaína a ser incorporada ao meio de cultivo baseou-se em levantamento de dados da literatura científica referentes a casos de intoxicação por cocaína, incluindo concentrações reportadas em fígado bovino e humano [20], bem como em dados de exames toxicológicos quantitativos em sangue realizados pela PCISC no período de 2018 a 2022. A partir dessa análise comparativa, estabeleceu-se uma concentração teórica de 6 µg/mL para o presente estudo.

A dieta artificial foi adaptada do modelo proposto por Estrada [21]. O meio de cultivo foi preparado com 50 g de peito de frango, 50 g de leite em pó, 50 g de levedo de cerveja e 3 g de caseína. A cocaína, proveniente de material apreendido e com pureza estimada de 70% [22], foi preparada na concentração de aproximadamente 14,4 µg/mL, sendo diluída em 250 mL de água destilada.

Posteriormente, adicionou-se a solução de 10 g de ágar-ágar em 170 mL de água destilada, ao final da preparação do meio, resultando em uma concentração final teórica de aproximadamente 6 µg/mL. Todos os componentes foram pesados em balança semianalítica, homogeneizados com auxílio de mixer e distribuídos em placas de Petri.

As larvas utilizadas foram obtidas pela oviposição de moscas em carcaças de animais [23], sendo posteriormente transferidas para desenvolvimento na dieta artificial desenvolvida pela equipe da PCISC (Figura 1). Foram preparadas duas placas contendo a dieta, cada uma com 50 larvas, acondicionadas em um recipiente plástico com aproximadamente 15 cm de altura, coberto com uma tela para permitir ventilação e troca gasosa. As amostras foram mantidas em temperatura ambiente no laboratório de entomologia da PCISC até atingirem o terceiro estágio larval (L3). Após esse período as larvas L3 foram coletadas e armazenadas em etanol 70%, sob refrigeração durante 15 horas.

Essa condição de armazenamento foi adotada com base na maior estabilidade da cocaína em temperatura reduzidas, conforme descrito na literatura [24]. O protocolo de armazenamento seguiu o padrão operacional adotado pela PCISC em análises forenses, baseado no método descrito por Oliveira-Costa [25].



Figura 1. Larvas de *Lucilia eximia* em dieta artificial.

2.3. Determinação da espécie e verificação do estágio larval

Para a determinação da espécie e verificação do estágio larval, 10 larvas de cada placa preparada foram submetidas a processo de clareamento em soluções de ácido acético e hidróxido de sódio (NaOH). Essa metodologia de clareamento segue o protocolo interno adotado pela Polícia Científica de Joinville (dados não publicados).

A análise microscópica das estruturas morfológicas foi realizada conforme metodologia descrita por Prado e colaboradores [26], com ênfase na avaliação dos espiráculos posteriores, estrutura chave para diferenciação específica e determinação do estágio de desenvolvimento.

Com base nas características observadas, as larvas analisadas são compatíveis com a espécie *Lucilia eximia* (Wiedemann) 1819 (Diptera: Calliphoridae) (Figuras 2 e 3). Ressalta-se que as larvas utilizadas para identificação taxonômica não foram empregadas nas análises entomotoxicológicas, sendo posteriormente descartadas.

2.4. Detecção de cocaína nas larvas

A detecção da cocaína foi realizada em quatro amostras: 40 larvas inteiras de *L. eximia* (A1); solução de etanol utilizada na conservação das larvas (A2); solução de diclorometano empregada na etapa de descontaminação das larvas (A3) e intestino de 40 larvas de *L. eximia* (A4).

Na etapa inicial de análise de amostra A1, utilizou-se o processo extrativo adaptado de Magni e Oliveira-Costa [12, 25]. As larvas, previamente removidas da solução de etanol, foram transferidas para tubo Falcon contendo 2

mL de diclorometano e submetidas à agitação em vórtex por 2 minutos, com a finalidade de promover a descontaminação superficial. Em seguida, foram removidas do solvente e depositadas em papel filtro até completa secagem à temperatura ambiente.



Figura 2. Vista anterior da larva de *Lucilia eximia*, estruturas cefalofaríngeas e espiráculos anteriores.

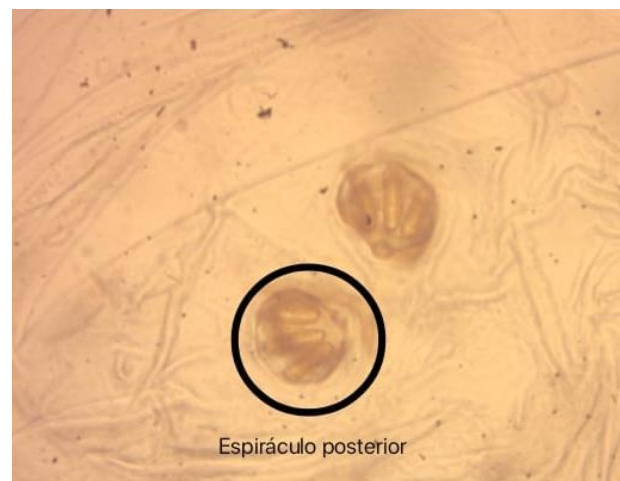


Figura 3. Espiráculo posterior de larva de *Lucilia eximia*.

Posteriormente, uma alíquota de 0,938 g da amostra A1 foi macerada em gral com auxílio de pistilo, seguida da adição de 2 mL de diclorometano. A mistura foi transferida para tubo falcon, homogeneizada em vórtex por 2 minutos e submetida a banho ultrassônico por aproximadamente 1 minuto. Para otimizar o processo de extração líquido-líquido (ELL), esse conteúdo foi dividido em 2 tubos Falcon, sendo adicionados, em cada tubo, 2 mL de acetonitrila em baixa temperatura e duas pequenas quantidades (ponta de espátula) de sais de QuEChERS (sulfato de magnésio e cloreto de sódio) com

objetivo de promover a separação do analito das proteínas, lipídios e água da matriz.

As amostras foram novamente submetidas à agitação em vórtex e banho ultrassônico nas mesmas condições descritas anteriormente, seguidas de centrifugação por 5 minutos a 3500 rpm. A fase orgânica (acetoneitrila) foi coletada, evaporada à temperatura ambiente e ressuspensa com 200 µl de metanol (Figura 4).

As amostras A2 e A3 foram submetidas à evaporação em temperatura ambiente e posteriormente ressuspensas em 500 µl de metanol, sendo então analisadas por CG-EM para detecção da cocaína.

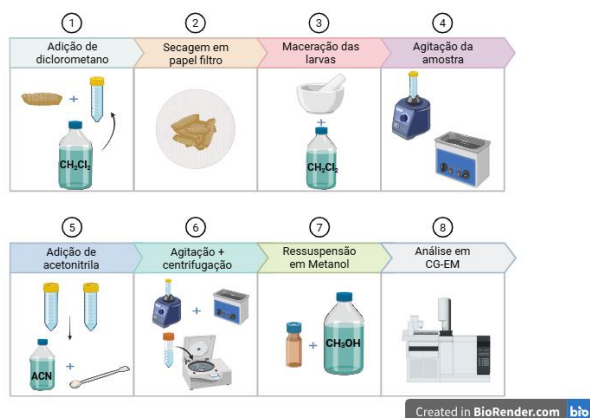


Figura 4. Extração de cocaína por maceração de larvas.

A amostra A4 foi submetida à dissecação do trato intestinal, conforme adaptação do método descrito por Kondakci [27]. Foram realizadas incisões em larvas com auxílio de bisturi, seguidas da remoção do intestino com alfinete entomológico, obtendo-se aproximadamente 0,8 g de material. O material extraído foi transferido para microtubo contendo 1,5 mL de etanol 70%, enquanto o restante das larvas foi acondicionado em outro microtubo nas mesmas condições.

Ambos os microtubos foram submetidos à agitação em vórtex por 2 minutos, banho ultrassônico por 1 minuto e centrifugação por 5 minutos a 3500 rpm. O sobrenadante foi transferido para um novo microtubo e mantido até a evaporação completa em temperatura ambiente. Posteriormente, o extrato seco foi ressuspenso em 200 µL de metanol e analisado por CG-EM, com finalidade qualitativa para detecção de cocaína conforme ilustrado na Figura 5.

O controle branco foi constituído por intestinos de larvas não expostas à cocaína, submetidos ao mesmo protocolo analítico empregado para a amostra A4.

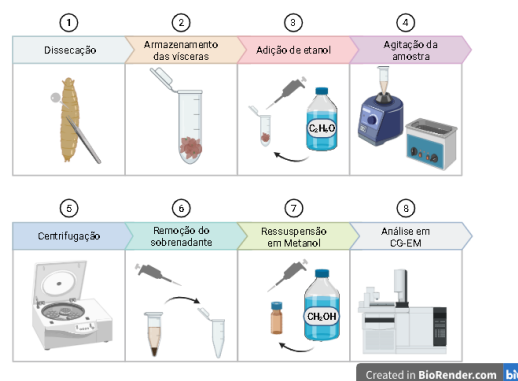


Figura 5. Extração de cocaína do intestino das larvas.

2.5. Análise toxicológica qualitativa por cromatografia gasosa acoplada à espectrometria de massas (CG-EM)

As amostras ressuspensas com metanol foram submetidas à análise por Cromatógrafo Gasoso, com Espectrômetro de Massas Agilent 7890 MS 5975C, com uma coluna capilar de HP-5MS. As condições cromatográficas foram estabelecidas da seguinte forma: volume de injeção de 1 µL; temperatura do injetor de 280°C; temperatura do forno iniciando em 60°C, com rampa até 80°C (5°C/min), seguida de elevação até 300°C (12°C/min) por 10 minutos, totalizando tempo de corrida de 32,33 minutos. As condições do espectrômetro de massas incluíram temperatura da fonte de íons de 230°C, temperatura do quadrupolo de 150°C e aquisição de dados na faixa de varredura (scan) de m/z 50-450.

A análise foi conduzida em dois modos de aquisição: modo varredura completa (scan), com razão de split de 1:30, e modo de monitoramento de íons selecionados (SIM), em condição splitless, visando maior sensibilidade. No modo SIM, foram monitorados os íons característicos da cocaína (m/z 82, 182 e 303). A identificação das substâncias detectadas no CG-EM foi realizada a partir da comparação dos espectros de massas obtidos com bibliotecas espectrais de referência, incluindo Cayman Spectral Library; SWGDRUG Mass Spectral Library e Wiley W9N11. Para a verificação do tempo de retenção da cocaína foi utilizado padrão de trabalho disponível da PCISC.

3. RESULTADOS E DISCUSSÕES

O amplo consumo de cocaína pela população humana e seus efeitos farmacológicos refletem-se na frequente detecção dessa substância em análises toxicológicas *post-mortem* nos serviços forenses. Dependendo das circunstâncias do óbito e do estágio de decomposição do cadáver, torna-se necessária a utilização de diferentes

matrizes biológicas para a detecção de substâncias psicoativas.

Nesse contexto, o uso de larvas de insetos necrófagos em análises toxicológicas tem se expandido, permitindo a identificação qualitativa e quantitativa de substâncias, incluindo drogas líticas e ilícitas, além de contribuir para a estimativa do intervalo *post-mortem* [28].

No presente estudo, as análises entomotoxicológicas foram iniciadas com a avaliação do intestino de larvas de *L. eximia* não expostas à cocaína (controle branco), por CG-EM, com o objetivo de caracterizar compostos endógenos e possíveis interferentes de matriz (Figura 6). Foram observados picos correspondentes a ésteres etílicos de ácidos graxos, como palmitato de etila (tempo de retenção: 15,662 min) e oleato de etila (16,998 min), possivelmente derivados da esterificação de triglicerídeos presentes na amostra além de um pico discreto de colesterol (23,184 min).

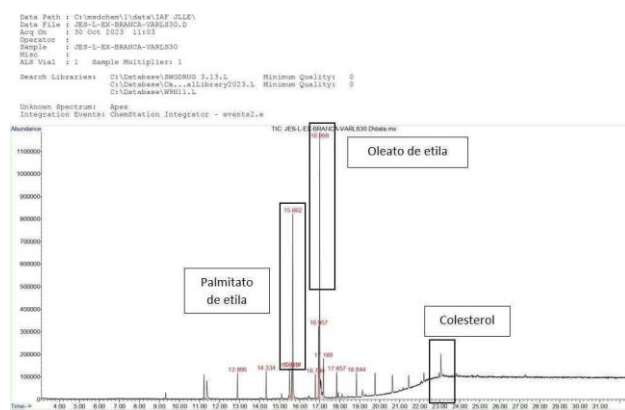


Figura 6. Cromatograma obtido no método *splitless* da amostra controle branco de *Lucilia eximia*.

A análise da amostra A1, realizada por CG-EM, em modo scan com razão de split de 1:30, não permitiu a detecção da cocaína, possivelmente em decorrência da elevada complexidade da matriz, caracterizada pela presença de lipídios e quitina. Os compostos majoritariamente detectados foram ésteres e amidas de ácidos graxos, incluindo ácido tetradecanoico (14,077 min), oleato de etila (17,096 min), docosenamida (21,150 min) e colesterol (23,184 min) (Figura 7).

Esse perfil pode estar relacionado ao metabolismo larval e a possível biotransformação ou eliminação da droga durante o desenvolvimento [23]. Ainda assim, a bioacumulação de substâncias em larvas segue padrões previsíveis, influenciados pelas propriedades físico-químicas dos compostos e os estágios larvais [29].

Quando a amostra A1 foi analisada em modo SIM, com injeção *splitless*, observou-se a presença de picos

correspondentes aos fragmentos iônicos característicos da cocaína no tempo de retenção esperado (Figura 8).

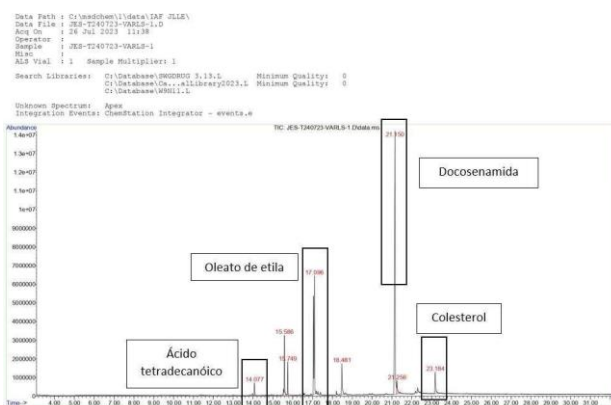


Figura 7. Compostos detectados na primeira metodologia de extração de cocaína das larvas no método varredura.

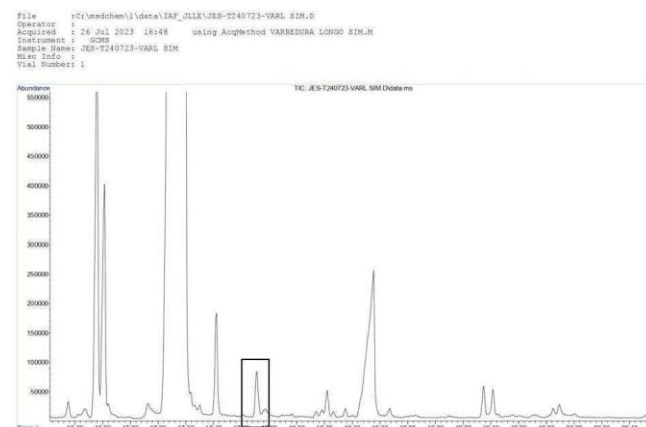


Figura 8. Pico de fragmento iônico da cocaína na amostra A1 no modo SIM.

A utilização do modo SIM demonstrou maior sensibilidade e seletividade, permitindo a detecção do analito mesmo na presença de interferentes da matriz, uma vez que restringe a aquisição aos íons de interesse, reduzindo o ruído analítico [27].

As amostras A2 (etanol de conservação) e A3 (diclorometano de descontaminação) foram analisadas tanto em modo scan quanto em modo SIM, sob as mesmas condições instrumentais. A detecção de cocaína foi observada exclusivamente no modo SIM, evidenciando a importância da etapa de descontaminação externa das larvas.

A análise da amostra A4 (conteúdo intestinal) por CG-EM, em modo scan e razão de split de 1:30, permitiu a identificação dos principais íons característicos da cocaína (m/z 82, 182 e 303), o que pode ser atribuído à menor

interferência de matriz em comparação às larvas inteiras (Figura 9).

De acordo com Calfe [30], durante a alimentação, as larvas conduzem o material ingerido ao proventrículo, onde ocorre uma pré-digestão, sendo posteriormente transferido ao intestino médio, local de intensa atividade enzimática e absorção de nutrientes.

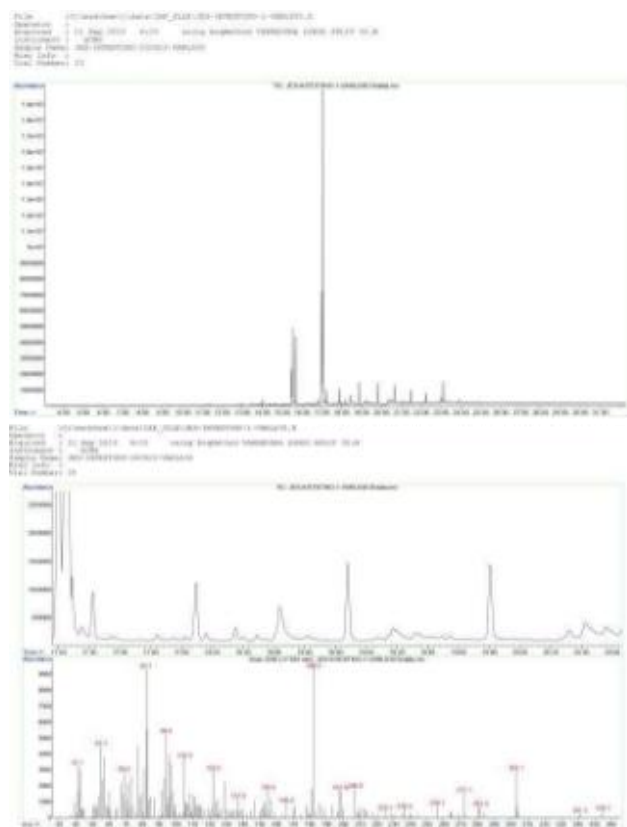


Figura 9. Resultado obtido a partir da análise em CG-EM em método varredura do intestino das larvas.

Substâncias não assimiladas e microrganismos são eliminados posteriormente. A natureza lipofílica da cocaína favorece sua difusão e retenção em tecidos com maior afinidade lipídica, como o trato digestivo larval. Além disso, a maior concentração de xenobióticos no intestino pode ser parcialmente explicada pela presença do bolo alimentar, diretamente exposto ao substrato contaminado.

Estudos como o de Groth et al. [31], demonstram que diferentes tecidos larvais apresentam perfis distintos de bioacumulação, sendo o intestino uma matriz de maior concentração e detectabilidade de drogas. Por outro lado, a análise do organismo inteiro pode introduzir interferências analíticas, especialmente devido à presença de quitina no exoesqueleto, cuja redução ou remoção contribui para o aumento da sensibilidade do método.

Nesse contexto, a seleção de matrizes específicas, aliada à diminuição da fração quitinosa, mostra-se mais eficaz do que a análise exclusiva do intestino. Adicionalmente, Hou et al. [32] destacam que o trato digestivo apresenta elevada atividade metabólica e maior retenção de substâncias tóxicas, reforçando sua relevância em estudos entomotoxicológicos.

No que diz respeito ao processo de extração da matriz forense, a extração líquido-líquido (ELL) e a extração em fase sólida (SPE) são metodologias amplamente empregadas em análises de larvas fortificadas com extrato de cocaína para posterior análise em CG-EM [9, 33]. A ELL, embora de fácil execução, pode resultar em coextração de lipídios, dificultando a identificação do analito. Em contrapartida, a SPE apresenta maior eficiência na remoção de interferentes, proporcionando maior clareza cromatográfica e melhor detecção dos picos característicos da cocaína [33]. Apesar destas limitações, a ELL permanece como uma técnica amplamente utilizada devido à sua simplicidade e aplicabilidade.

Os resultados obtidos indicam que o intestino das larvas apresentou melhor desempenho na detecção de cocaína em comparação às demais matrizes avaliadas. Contudo, essa observação não pode ser interpretada como evidência conclusiva de superioridade da matriz intestinal, uma vez que foram empregados protocolos de extração distintos para cada tipo de amostra, o que limita a comparação direta entre as amostras.

Embora a análise do intestino exija etapas adicionais, como a dissecação das larvas, procedimento dependente de habilidade técnica, apresenta vantagens como a redução de interferentes provenientes de outras estruturas corporais, menor consumo de reagentes e potencial aumento da seletividade analítica.

Em revisão realizada por Stojak [3], o pesquisador ressalta a necessidade de aprofundamento dos estudos entomotoxicológicos para melhor compreensão dos processos de bioacumulação de xenobióticos e seus impactos na estimativa do IPM. De forma complementar, Gagliano-Candela [10] demonstraram a presença de diferentes substâncias em larvas, pupas e pupários, correlacionando estes achados com alterações no desenvolvimento larval. Os autores também observaram que a combinação de SPE e análise por CG-EM em modo SIM proporciona maior eficiência na detecção de substâncias tóxicas.

O presente estudo não trabalhou com metabólitos relevantes da cocaína, como a benzoilecgonina. Essa decisão metodológica decorreu da definição da cocaína como analito primário para estudo inicial, selecionado em função de sua maior disponibilidade e resposta analítica

mais favorável em cromatografia gasosa acoplada à espectrometria de massas, dispensando etapas adicionais, como a derivatização.

Adicionalmente, a indisponibilidade de padrões analíticos certificados para metabólitos específicos constitui um fator limitante para a sua inclusão no escopo analítico, restringindo a abordagem à detecção qualitativa da cocaína como substância de interesse.

4. CONSIDERAÇÕES FINAIS

A detecção de cocaína no intestino de larvas de *L. eximia* alimentadas em meio artificial, bem como nas soluções de etanol e diclorometano analisadas por CG-EM, evidencia a distribuição do analito entre a matriz biológica e os solventes empregados no processamento.

Esses achados reforçam o potencial do intestino larval como matriz entomológica para a detecção de cocaína em contextos forenses, especialmente em casos de cadáveres em avançado estado de decomposição, nos quais há ausência de matrizes biológicas convencionais.

Contudo, a interpretação dos resultados deve considerar as condições experimentais controladas, bem como, a possibilidade de redistribuição do analito durante as etapas de processamento.

Outro aspecto relevante é a escolha do estágio larval L3, por se tratar do último estágio de desenvolvimento antes da pupação, caracterizado por maior acúmulo de biomassa e material, ingerido, favorecendo a detecção de xenobióticos.

Em contraste, a utilização de estágios anteriores pode apresentar limitações analíticas decorrentes da menor massa corporal e da reduzida quantidade de material biológico disponível, dificuldade a detecção e a comparabilidade com outras matrizes forenses. Dessa forma, a seleção do L3 contribui para maior viabilidade analítica e consistência dos resultados obtidos.

A elevada fração lipídica presente nas larvas constitui um desafio analítico relevante, uma vez que esses compostos, associados principalmente ao corpo gorduroso, atuam como importantes interferentes de matriz. Nesse contexto, torna-se necessária a adoção de estratégias de preparo de amostra capazes de reduzir a coextração de lipídios sem comprometer a recuperação do analito.

Ficou evidente que a detecção de substâncias lipofílicas como a cocaína requer não apenas sensibilidade analítica, mas também a escolha da matriz mais apropriada. Evidências recentes indicam que o trato digestivo de dípteros, necrófagos concentra maiores níveis de xenobióticos e apresentar menor interferência de

compostos endógenos, resultando em maior clareza nos cromatogramas e confiabilidade analítica [34].

Os resultados obtidos reforçam a necessidade de padronização de protocolos de coleta, preparo e análise de amostras entomológicas, bem como a consideração de variáveis farmacocinéticas e metabólicas envolvidas na bioacumulação de substâncias em larvas.

Além disso os resultados demonstraram que a seleção e o preparo da matriz (intestino) são fatores importantes para aumento da sensibilidade e da robustez analítica em estudos em entomotoxicologia forense. Dessa forma, o desenvolvimento de metodologias de análises entomotoxicológicas tende a consolidar essa abordagem como ferramenta confiável em investigações nas quais as matrizes biológicas convencionais se encontram indisponíveis ou inviáveis para análise.

AGRADECIMENTOS

As acadêmicas do curso de Farmácia da Universidade da Região de Joinville, UNIVILLE, gostariam de agradecer aos peritos criminais Gisele Chibinski Parabocz, Anderson Gaedke, Suellen Pericolo e Tiago Luis da Silva, à professora e orientadora Doutora Roseneide Campos Deglmann, à professora Doutora Silvia Aparecida Ramos e à técnica do Laboratório de Análises Clínicas da UNIVILLE, Dalva Cristiano Tomaz, pelo apoio concedido no desenvolvimento deste trabalho.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- [1] C.T. Pereira. Levantamento de dípteros coletados em cadáveres humanos nas ocorrências atendidas pelo Instituto Geral de Perícias de Florianópolis, SC. *Trabalho de Conclusão de Curso*. Departamento de Ciências Biológicas, Universidade Federal de Santa Catarina (2021).
- [2] F. Introna; C.P. Campobasso; M.L. Goff. Entomotoxicology. *Forensic Science International* **120**: 42-47 (2001).
- [3] J. Stojak. Use of entomotoxicology in estimating post-mortem interval and determining cause of death. *Forensic practice* **295** (1) (2017).
- [4] M. Gosselin, et al. Entomotoxicology, experimental set-up and interpretation for forensic toxicologists. *Forensic Science International* **208**: 1-9 (2001)
- [5] J.R. Pujol-Luz; L.C. Arantes ; R. Constantino. Cem anos da Entomologia Forense no Brasil (1908-2008). *Revista Brasileira de Entomologia* **52(4)**: 485-492 (2008).
- [6] L.A.L. Carneiro. Influência das drogas sobre o desenvolvimento de insetos necrófagos de interesse

- forense. Uma revisão bibliográfica. *Dissertação de Mestrado*, Departamento de Farmacologia, Universidade Federal de Santa Catarina (2017).
- [7] A. Gaedke ; D.M.D.S. Mouga. Diptera survey in human corpses in the north of the state of Santa Catarina, Brazil. *Acta Biológica Catarinense* **4(1)** : 42-51 (2017).
- [8] R.S. Sohal ; R.E. Lamb. Intracellular Deposition of Metals in the Midgut of the Adult Housefly, *Musca domestica*. *J. Insect Physiol* **23** : 1349-1654 (1977)
- [9] R. Chophi ; S. Sharma ; S. Sharma ; R. Singh. Forensic entomotoxicology : Current concepts, trends and challenges. *Journal of Forensic and Legal Medicine* **67** : 28-36 (2019).
- [10] R. Gagliano-Candela, L. Aventaggiato. The detection of toxic substances in entomological specimens. *Int J Legal Med* **114** : 197-203 (2001).
- [11] K.B. Nolte. Insect Larvae Used to Detect Cocaine Poisoning in a Decomposed Body. *Journal of Forensic Sciences* **37** : 1179-1185 (1992).
- [12] P.A. Magni ; M. Pazzi ; M. Vincenti ; E. Alladio ; M. Brandimarte ; I.R. Dadour. Development and validation of GC-MS method for nicotine detection in *Calliphora vomitoria* (L.) (Diptera : Calliphoridae). *Forensic Science International* **261** : 53-60 (2016).
- [13] A. Lara et al. *Entomologia Forense na Prática do Laboratório à Utilização do Vestígio*. (2021).
- [14] E.S. Opaleye et al. II Relatório brasileiro sobre drogas. *Ministério da Justiça e Segurança Pública, Secretaria Nacional de Políticas sobre Drogas* (357) (2021). Retirado em 20/10/2023, de <https://repositorio.unifesp.br/handle/11600/63024>.
- [15] J-L. Lemahieu et al. 3 Drug Supply - World Drug Report 2020. *United Nations publications E.20.XI.6* (2020). Retirado em 20/10/2023, de https://wdr.unodc.org/wdr2020/field/WDR20_Booklet_3.pdf.
- [16] M.L. Goff; A.I. Omori; J.R. Goodbrod. Effect of cocaine in Tissues on the Development Rate of *Boettcherisca peregrina* (Diptera: Sarcophagidae). *J. Med. Entomol.* **26(2)**: 91-93(1989).
- [17] L.M.L de Carvalho; A.X. Linhares; F.A.B Palhares. The effect of cocaine on the development rate of immatures and adults of *Chrysomya albiceps* and *Chrysomya putoria* (Diptera: Calliphoridae) and its importance to postmortem interval estimate. *Forensic Science International* **220**: 27-32 (2012).
- [18] L.P.P. Pontes et al. Agentes tóxicos e o desenvolvimento de insetos: uma revisão bibliográfica e sua aplicabilidade em entomotoxicologia. *Rev. Bras. Crimin.* **11(2)**: 30-37 (2022).
- [19] H.P. Carstens; B. Lenz; D.A. Borges; G. Paraboz; S. Pericolo; J.L. Oliveira; S.A. Ramos. Avaliação dos compostos adulterantes de amostras de cocaína apreendidas no norte de Santa Catarina. *XXIV Congresso Nacional de Criminalística* (2017).
- [20] E.J. Magalhães; M.E.L.T. Queiroz; M.L.O. Penido; M.A.R. Paiva; J.A.R. Teodoro; R. Augusti; C.C. Nascentes. Determination of cocaine in postmortem human liver exposed to overdose. Application of an innovative and efficient extractions/clean up procedure and gas chromatography-mass spectrometry analysis. *Journal of Chromatography A*, **1309**: 15-21 (2013).
- [21] D.A. Estrada; M.D. Grella; P.J. Thyssen; A.X. Linhares. Taxa de Desenvolvimento de *Chrysomya albiceps* (Wiedemann) (Diptera: Calliphoridae) em Dieta Artificial Acrescida de Tecido Animal para Uso Forense. *Neotropical Entomology* **38 (2)**: 203-207 (2009).
- [22] Drug Market Patterns and Trends – World Drug Report 2025. *United Nations Office on Drugs and Crime*. Retirado em 20/04/2026, de <https://www.unodc.org/unodc/en/data-and-analysis/wdr-drug-market-patterns-trends.html>
- [23] J.A. França; M. Brandão; F.F. Sodré; E.D. Caldas. Simultaneous determination of prescription drugs, cocaine, aldicarb and metabolites in larvae from decomposed corpses by LC-MS-MS after solid-liquid extraction with low temperature partitioning. *Forensic Toxicology* **33**. 93-103 (2015).
- [24] C.I.M. Mourato. Estabilidade da cocaína no sangue: estudo e otimização. *Dissertação de Mestrado*, Departamento de Medicina Legal e Ciências Forenses, Universidade de Lisboa (2016).
- [25] J. Oliveira-Costa. *Entomologia Forense – Quando os insetos são vestígios*. Editora Millennium, Brasil (2013).
- [26] A.M. Prado; A.G. Savino; P.J. Thyssen. Chave interativa para larvas de terceiro ínstar de moscas varejeiras neotropicais (Insecta, Diptera, Calliphoridae): a contribuição de ferramentas computacionais para auxiliar na identificação de espécies. *Entomologia Neotropical* **52**: 373-379 (2023).
- [27] G.O. Kondakci; A. Bulbul; M.S. Shahza; E. Polat; H. Cakan; H. Altuncul; G. Filoglu. STR and SNP analysis of human DNA from *Lucilia sericata* larvae's gut contents. *Forensic Science International: Genetics Supplement Series* **2**: 178-179 (2009).
- [28] E. Alvear; D.V. Baer; C. Mardones; A. Hitschfeld. Determination of cocaine and its major metabolite benzoylecgonine in several matrices obtained from deceased individual with presumed drug consumption prior to death. *Journal of Forensic and Legal Medicine* **23**: 37-43 (2014).

- [29] C.P. Campobasso; M.G.M. Caligara; L. Sironi; F. Introna. Drug analysis in blowfly larvae and in human tissues: a comparative study. *Int. J. Legal Med.* **118**: 210-214 (2004).
- [30] R.R.T. Callefe ; S.R. de Oliveira ; J.C. Polonio ; B.V. Daquila ; M.C.C.R. Takasusuki ; K.A. Pamphile ; H. Conte ; E.D. Meurer. Bioprospecção de peptídeos antimicrobianos em larvas de Calliphoridae (Diptera) uma revisão sobre metodologias de extração, purificação e detecção. *Revista Saúde* **47(1)** (2021).
- [31] O.C. Groth ; A. Pi ; A.E. Jensen ; F. Reckel ; J. Hodecek ; A.K. Yahia ; S. Rahaus ; M.H. Villet ; M. Graw. Evaluating the value of entomotoxicology in forensic toxicology casework using the first minipig model. *Forensic Toxicology* **43** : 333-348 (2025).
- [32] S. Hou ; Z. Liu ; J. Su ; Z. Yang ; Z. Wang ; X. Yao ; Z. Lyu ; Y. Xia ; S. Zhang ; W. Cui ; Y. Wang ; L. Ren. Advances in Forensic Entomotoxicology for Decomposed Corpses : A Review. *Insects* **16** : 744 (2025).
- [33] F.S Luna ; M.I.B. Bistoni. Detección de cocaína en larvas de moscas, propuesta metodológica preliminar en el uso de larvas como matriz biológica alternativa en estudios toxicológicos post mortem. *Especialización en Criminalística y Actividade Periciales*. Facultad de Matemática, Astronomía, Física y Computación, Universidad Nacional de Córdoba (2020).
- [34] S.M.R. Wille ; W.E.E. Lambert. Recent developments in extraction procedures relevant to analytical toxicology. *Anal Bioanal Chem* **388** : 1381-1391 (2007).